

EINFLUSS VON FLUORCORTOLON AUF DIE
ENTWICKLUNG PRAENEOPLASTISCHER
ENZYMDEFEKTE INDUZIERT DURCH
DIÄTHYLNITROSAMIN

BARBARA BRITTA BURKHARD

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München

Direktor: Prof. Dr. M. Eder

Einfluß von Fluorcortolon auf die Entwicklung
praeneoplastischer Enzymdefekte induziert
durch Diäthylnitrosamin.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Barbara Britta Burkhard

aus

München

1973

Referent: Prof. Dr. A. Schauer

Koreferent: Prof. Dr. M. Eder

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 31. Juli 1973



Table of Contents

1.	Meinen Eltern	1
2.	Einleitung	2
3.	Erste Kapitel	3
4.	Zweite Kapitel	4
5.	Dritte Kapitel	5
6.	Vierte Kapitel	6
7.	Fünfte Kapitel	7
8.	Sechste Kapitel	8
9.	Siebte Kapitel	9
10.	Achte Kapitel	10
11.	Neunte Kapitel	11
12.	Zehnte Kapitel	12
13.	Elfte Kapitel	13
14.	Zwölfte Kapitel	14
15.	Trizehnte Kapitel	15
16.	Vierzehnte Kapitel	16
17.	Fünfzehnte Kapitel	17
18.	Sechzehnte Kapitel	18
19.	Sechzehnte Kapitel	19
20.	Sechzehnte Kapitel	20
21.	Sechzehnte Kapitel	21
22.	Sechzehnte Kapitel	22
23.	Sechzehnte Kapitel	23
24.	Sechzehnte Kapitel	24
25.	Sechzehnte Kapitel	25
26.	Sechzehnte Kapitel	26
27.	Sechzehnte Kapitel	27
28.	Sechzehnte Kapitel	28
29.	Sechzehnte Kapitel	29
30.	Sechzehnte Kapitel	30
31.	Sechzehnte Kapitel	31
32.	Sechzehnte Kapitel	32
33.	Sechzehnte Kapitel	33
34.	Sechzehnte Kapitel	34
35.	Sechzehnte Kapitel	35
36.	Sechzehnte Kapitel	36
37.	Sechzehnte Kapitel	37
38.	Sechzehnte Kapitel	38
39.	Sechzehnte Kapitel	39
40.	Sechzehnte Kapitel	40
41.	Sechzehnte Kapitel	41
42.	Sechzehnte Kapitel	42
43.	Sechzehnte Kapitel	43
44.	Sechzehnte Kapitel	44
45.	Sechzehnte Kapitel	45
46.	Sechzehnte Kapitel	46
47.	Sechzehnte Kapitel	47
48.	Sechzehnte Kapitel	48
49.	Sechzehnte Kapitel	49
50.	Sechzehnte Kapitel	50
51.	Sechzehnte Kapitel	51
52.	Sechzehnte Kapitel	52
53.	Sechzehnte Kapitel	53
54.	Sechzehnte Kapitel	54
55.	Sechzehnte Kapitel	55
56.	Sechzehnte Kapitel	56
57.	Sechzehnte Kapitel	57
58.	Sechzehnte Kapitel	58
59.	Sechzehnte Kapitel	59
60.	Sechzehnte Kapitel	60
61.	Sechzehnte Kapitel	61
62.	Sechzehnte Kapitel	62
63.	Sechzehnte Kapitel	63
64.	Sechzehnte Kapitel	64
65.	Sechzehnte Kapitel	65
66.	Sechzehnte Kapitel	66
67.	Sechzehnte Kapitel	67
68.	Sechzehnte Kapitel	68
69.	Sechzehnte Kapitel	69
70.	Sechzehnte Kapitel	70
71.	Sechzehnte Kapitel	71
72.	Sechzehnte Kapitel	72
73.	Sechzehnte Kapitel	73
74.	Sechzehnte Kapitel	74
75.	Sechzehnte Kapitel	75
76.	Sechzehnte Kapitel	76
77.	Sechzehnte Kapitel	77
78.	Sechzehnte Kapitel	78
79.	Sechzehnte Kapitel	79
80.	Sechzehnte Kapitel	80
81.	Sechzehnte Kapitel	81
82.	Sechzehnte Kapitel	82
83.	Sechzehnte Kapitel	83
84.	Sechzehnte Kapitel	84
85.	Sechzehnte Kapitel	85
86.	Sechzehnte Kapitel	86
87.	Sechzehnte Kapitel	87
88.	Sechzehnte Kapitel	88
89.	Sechzehnte Kapitel	89
90.	Sechzehnte Kapitel	90
91.	Sechzehnte Kapitel	91
92.	Sechzehnte Kapitel	92
93.	Sechzehnte Kapitel	93
94.	Sechzehnte Kapitel	94
95.	Sechzehnte Kapitel	95
96.	Sechzehnte Kapitel	96
97.	Sechzehnte Kapitel	97
98.	Sechzehnte Kapitel	98
99.	Sechzehnte Kapitel	99
100.	Sechzehnte Kapitel	100

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einführung	5
B. Experimenteller Teil	
I. Material und Methodik	7
II. Ergebnisse	10
C. Theoretischer Teil	
I. Theorien über die Wirkungsweise des Diäthylnitrosamin	15
II. Überblick über die Wirkung der Glucocorticoide	17
III. Mögliche Ursachen für die Hemmung der Zellcancerisierung durch das Glucocorticoid Fluocortolon	
1. Enzyminduktion	20
a) Definition, Theorien und Beispiel	
b) Einfluß auf die Proliferation	
c) Induktion des enzymatischen Abbaus alkylierender Substanzen	
d) Einwände gegen die Alkylierung als einzigen Mechanismus der Cancerisierung	

	Seite
2. Wirkung auf die Mitose	24
a) Beeinflussung der zeitlichen Dauer der Phasen des Zellzyklus und der DNS-Synthese	
b) Mitose und Chalone	
3. Wirkung auf die Lysosomen	27
a) Angriff an der Lysosomenmembran und Freisetzung lysosomaler Enzyme	
b) Möglicher Zusammenhang zwischen Lysosomenschäden, Chromosomenaberra- tionen und maligner Entartung	
4. Geschlechtsunterschiede	32
D. Ausblick: Die verschiedenen Deutungsmöglich- keiten der Versuchsergebnisse	34
E. Zusammenfassung	35
F. Literaturverzeichnis	36
G. Lebenslauf	56

E i n f ü h r u n g

Die Erzeugung von Lebertumoren durch das alkylierend wirkende Diäthylnitrosamin (DÄNA) ist von MAGEE und BARNES 1956 erstmals nachgewiesen worden.

Als frühest faßbare Veränderungen wurden bei einer Dosierung von 4 mg/kg KG/ die inselförmige, scharf begrenzte praeneoplastische Ausfallsbezirke der Nucleosid-5'-Triphosphatasen (SCHAUER 1966, SCHAUER und KUNZE 1968) und der Glucose-6-Phosphatase (FRIEDRICH-FREKSA und GÖSSNER 1964, SCHAUER und KUNZE 1968) festgestellt. Solche lokalisierten, enzymhistochemisch nachweisbaren Enzymdefekte wurden inzwischen an verschiedenen Organismen im Zuge der Cancerisierung nachgewiesen (SCHAUER e.a. 1969). Wie Absetzungsversuche ergaben, sind die Ausfallsherde irreversibel (SCHAUER und FEICHTNER 1968).

An der Leber zeigten die Defektbezirke eine Glykogenspeicherung, die beim Übergang in Mikrocarcinome wieder verloren ging (BANNASCH 1968, FARBER 1968, FORGET und DAOUST 1970, SCHAUER und KUNZE 1968, SYDOW und FEY 1969). Autoradiographische Untersuchungen mit ^3H -Cytidin ergaben in diesen Enzymdefektbezirken eine gesteigerte RNS-Synthese (SCHAUER und KUNZE 1968, BADER e.a. 1971).

Auch nach Applikation von Dibutylnitrosamin und 1,2-Dimethylhydrazin über einen Zeitraum von 100 Tagen wurden gleichwertige Defekte am Lebergewebe noch nach 300 Tagen nachgewiesen (KUNZE e.a. 1970).

Aus der Persistenz in Absetzungsversuchen und dem Spätauftreten bei niedriger Cancerogendosis ist zu schließen, daß die Defekte genetisch fixiert sind. RABES e.a. (1970) fanden, daß die Enzymdefektbezirke nach partieller Hepatektomie noch an der Proliferation des Regenerationsprozesses teilnehmen und somit regulierbar sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde die hormonelle Beeinflussbarkeit der Entwicklung dieser Defektbereiche nach Zufuhr des Corticosteroidderivates Fluocortolon, einem Glucocorticoid, geprüft, da es denkbar war, daß Glucocorticoide aufgrund ihrer antimitotischen, die Proteinsynthese hemmenden oder auch enzyminduzierenden Wirkung (die Induktion ist auf spezifische Enzymgruppen beschränkt), die Entwicklung der Defektbezirke beeinflussen, möglicherweise eine Entwicklungshemmung auslösen.

Tab. 1: Applizierte Gesamtdosis Diäthylnitrosamin (DÄNA)
in mg / kg Körpergewicht zu den einzelnen Versuchszeitpunkten bei sämtlichen Tieren

Zeit in Tagen	65.	75.	80.	85.	90.	95.	100.	105.
DÄNA in mg	111,6	128,4	136,8	145,2	153,6	163,2	171,6	180,0

Tab. 2: Applizierte Gesamtdosis Fluocortolon (Ultralan^R)
in mg / kg Körpergewicht zu den einzelnen Versuchszeitpunkten bei drei verschieden hohen Dosierungen

Zeit in Tagen	65.	75.	80.	85.	90.	95.	100.	105.
Fluocortolon Dosis 0,25 mg/ kg KG / die	11,6	13,4	14,3	15,1	16,0	17,0	17,9	18,8
Dosis 0,20 mg/ kg KG / die	9,3	10,7	11,4	12,1	12,8	13,6	14,3	15,0
Dosis 0,10 mg/ kg KG / die	4,7	5,3	5,7	6,1	6,4	6,8	7,1	7,5

M a t e r i a l u n d M e t h o d i k

122 männlichen und 98 weiblichen Wistarratten mit einem Ausgangsgewicht von 150 bis 350 g wurde in einem Zeitraum bis zu 105 Tagen 2 mg/kg KG/die Diäthylnitrosamin (DANA) in wäßriger Lösung mit der Schlundsonde verabreicht. Davon erhielten 82 männliche und 57 weibliche Tiere fünfmal wöchentlich vor 8⁰⁰ morgens 6 α -Fluor-16 α -methyl-1-dehydrocorticosteron (Fluocortolon, Ultralan^R) suspendiert in wäßriger Lösung ebenfalls mit der Schlundsonde in drei verschiedenen hohen Dosierungen, und zwar 20 männliche Tiere 0,25 mg/kg KG/die, 23 männliche 0,20 mg/kg KG/die und 13 männliche 0,10 mg/kg KG/die sowie 12 weibliche Ratten 0,20 mg/kg KG/die und 45 weibliche 0,10 mg/kg KG/die.

Alle zwei Wochen wurde das Gewicht der Tiere kontrolliert und danach die täglichen Dosierungen von DANA und Fluocortolon neu berechnet. Bei den Tieren, die Fluocortolon erhalten haben, sistierte während der ersten drei Wochen die Gewichtszunahme, später lag die Gewichtszuwachsrates nur gering unter der der Kontrolltiere.

Die applizierte Gesamtdosis DANA betrug am 65. Tag 111,6 mg/kg KG und am 105. Tag 180 mg/kg KG (Tab. 1). Fluocortolon wurde bis zum 65. Tag in Gesamtdosen von 11,6, 9,3 bzw. 4,7 mg/kg KG, bis zum 105. Tag in Mengen von 18,5, 15 bzw. 7,5 mg/kg KG verabreicht (Tab. 2).

30 männliche und 26 weibliche Wistarratten wurden beidseits adrenaletomiert und erhielten ab 7. Tag post operationem peroral DANA in der oben genannten Dosierung.

Zur Substitution bekamen die Tiere drei Wochen postoperativ dreimal wöchentlich 0,03 mg und anschließend bis Versuchsende zweimal wöchentlich 0,02 mg Flucortolon mit der Schlundsonde appliziert.

Das Hormon wurde vor 8⁰⁰ morgens verabreicht, da zu diesem Zeitpunkt der physiologische Bluthormonspiegel langsam ansteigt, nachdem er um 4⁰⁰ seinen tiefsten Wert erreicht hatte (GUILLEMIN e.a. 1959).

Als Kontrolltiere dienten ausschließlich mit DÄNA behandelte Ratten. Futter (Altromin-Standardkost) und Wasser standen ad libitum zur Verfügung. Die Tötung der Tiere erfolgte jeweils um 8⁰⁰ durch Decapitation. Die männlichen Tiere wurden am 75., 80., 85., 90., 100. und 105. Tag getötet, die weiblichen am 65., 75., 80., 85., 90., 95. und 100. Tag. Zu den einzelnen Versuchszeitpunkten wurden jeweils 5 bis 6 Tiere ausgewertet.

Zur Durchführung der enzymhistochemischen Untersuchungen wurden aus Gewebsstücken des rechten Leberlappens Kryostatserienschnitte von 5 μ Dicke aus verschiedenen tiefen Schichten des Gewebesblockes hergestellt. Die Nucleosid-5'-Triphosphatasen wurden enzymhistochemisch regelmäßig mit ATP als Substrat, stichprobenartig auch mit GTP, CTP und UTP als Substraten mit der von WACHSTEIN und MEISEL (1954) beschriebenen und von SCHUBERT und RINNEBERG (1962) modifizierten Methode nachgewiesen. Die Inkubationslösung setzte sich aus folgenden Bestandteilen zusammen:

- Lösung A: 10 mg ATP, 0,5 ml Aqua bidestillata
Lösung B: 10,0 ml Tris-Maleat-Puffer (0,2 M), pH 7,2
2,0 ml Magnesiumsulfat (0,1M), 1,5 ml Aqua bidestillata, 1,5 ml Bleinitrat (2%)

Die endgültige Inkubationslösung bestand aus dem filtrierten Gemisch der Lösungen A und B. Die Inkubationsdauer betrug 30 Minuten bei 37° C. Nach kurzem Abspülen in A. dest. wurden die Schnitte in 2 %ige wäßrige Ammoniumsulfidlösung gebracht. Fixiert wurden die Präparate in 10 %igem Formol. Die Kerne wurden mit Hämalau gefärbt.

Die Ausdehnung der Enzymdefektbezirke wurde planimetrisch bestimmt, wobei jeweils nur der größte Ausfallsherd ausgewertet wurde. Der größte Umfang wurde durch Herstellung von Serienschnitten ermittelt. Einem planimetrisch gemessenen cm^2 entsprechen in Wirklichkeit $0,25 \times 10^{-6} \text{ cm}^2$.

E r g e b n i s s e

Die Lebern der Ratten aller Versuchsgruppen waren in dem untersuchten Zeitraum makroskopisch unauffällig. Die Enzymdefektbezirke der Nucleosid-5'-Triphosphatasen traten bei der verwandten Dosierung etwa um den 70. Versuchstag regelmäßig auf. Sie waren gegenüber der Umgebung scharf begrenzt und lagen meistens periportal, gelegentlich parazentral oder intermediär. Die Enzymaktivität war im Cytoplasma und an den Gallengängen nahezu vollständig ausgefallen, während sie im Kern, insbesondere im Nucleolus, noch weitgehend erhalten war. Die Zellen in den Ausfallsherden zeigten histologisch keinerlei Atypien und unterschieden sich somit nicht von den Zellen der Umgebung mit erhaltener Enzymaktivität.

Nach 70 Versuchstagen wurden nur vereinzelt Defektbezirke beobachtet, wobei die Ausdehnung im Gegensatz zu späteren Zeitpunkten keine großen Unterschiede zeigte. Die Anzahl der Enzymdefektbezirke nahm mit steigender Versuchszeitdauer erheblich zu.

Die Ausdehnung der Enzymdefektherde - gemessen jeweils am größten Ausfallsbereich - nahm in den Lebern von männlichen und weiblichen Kontrolltieren vom 65. bzw. 75. bis zum 100. bzw. 105. Versuchstag kontinuierlich zu. Die männlichen Tiere zeigten am 95. und 100. Tag kleinere Defekte. Bei den männlichen Kontrollen konnte eine Flächenzunahme der Ausfallsbezirke um das 2,3fache während eines Versuchszeitraumes von 30 Tagen, beginnend am 75. Tag, festgestellt werden (Abb. 1). Bei den weiblichen Tieren fand sich eine Zunahme um das 4fache während eines Zeitraumes von 35 Tagen, zwischen dem 65. und 100. Versuchstag (Abb. 2).

Jene weiblichen Ratten, denen Fluocortolon in der Dosierung von 0,10 mg/kg KG/die verabreicht worden war, zeigten im Gegensatz zu den Kontrolltieren keine Zunahme in der Ausdehnung ihrer Defektbezirke mit steigender Versuchszeit. Mit Ausnahme des 65. Versuchstages waren die Ausfallsbereiche nach Applikation von Fluocortolon stets kleiner als die der zugehörigen Kontrolltiere: Am 75. Versuchstag waren die Enzymdefektbezirke bei den Kontrollen um das 2fache, am 80. um das 1,6fache, am 85. und 90. um das 1,5fache, am 95. um das 2,7fache und am 100. Tag um das 3,2fache größer. Wie die Gruppe mit der täglichen Dosierung von 0,20 mg/kg KG/die zeigt, ließ die Höhe der Fluocortolondosis bei den weiblichen Tieren keinen wesentlichen Einfluß auf die Größe der Ausfallsbezirke erkennen. (Abb. 2)

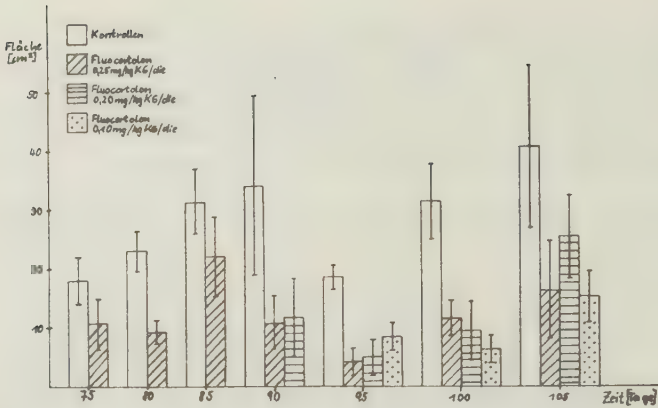


Abb. 1: Größe der Defektbezirke der Nucleosid-5'-Triphosphatases in Abhängigkeit von der Applikationszeit des DÄNA und des Fluocortolon bei männlichen Tieren.

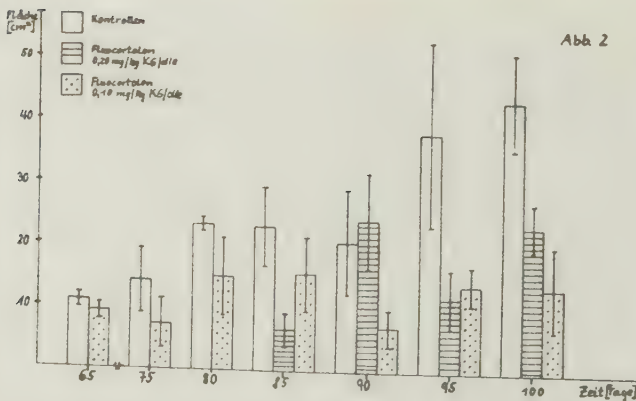


Abb. 2: Größe der Defektbezirke der Nucleosid-5'-Triphosphatases in Abhängigkeit von der Applikationszeit des DÄNA und des Fluocortolon bei weiblichen Tieren.

Die männlichen Tiere, denen Fluocortolon in den drei verschiedenen Dosierungen appliziert worden war, weisen an den Vergleichstagen ebenfalls keine nennenswerten Unterschiede auf. Ein Vergleich zwischen der Ausdehnung der Defektbezirke bei männlichen Kontrollen und männlichen Tieren mit einer täglichen Fluocortolon-Dosis von 0,25 mg/kg KG/die ergibt, daß die Werte bei den Kontrollen am 75. Tag um das 1,5fache, am 80. Tag um das 2,7fache, am 85. um das 1,4fache, am 90. um das 3,3fache, am 95. um das 4fache, am 100. um das 2,6fache und am 105. Tag um das 2,5fache höher liegen. (Abb. 1)

Auch bei den adrenaletomierten Tieren sind die Defektbezirke kleiner als bei den Kontrolltieren. Die Ausfallsherde der weiblichen Kontrollen weisen am 80. Tag die 2fache, am 95. und am 100. Tag die 2,4fache Ausdehnung auf (Abb. 3 b). Besonders auffällig sind die Ergebnisse bei den männlichen Tieren: Während am 80. Tag dem Kontrollwert ein 2,4fach kleinerer Wert gegenübersteht, wurden am 90., 95. und 100. Tag bei den adrenaletomierten Ratten überhaupt keine Defekte gefunden (Abb. 3 a). An diesen Tagen betragen die Kontrollwerte planimetrisch 37,5, 18,8 bzw. 31 cm² (1 cm² $\hat{=}$ 0,25 x 10⁻⁶ cm²). Insgesamt blieben von den adrenaletomierten Tieren nur 14 männliche und 10 weibliche Tiere bis zum Schluß der Versuche am Leben, also 43 %. Ein Teil der Tiere starb unter schweren Krämpfen.

Bei allen adrenaletomierten Tieren sowie der Hälfte der Kontroll- und Fluocortolontiere wurden die Mägen makroskopisch untersucht, wobei jedoch nie ein Ulkus nachgewiesen wurde.

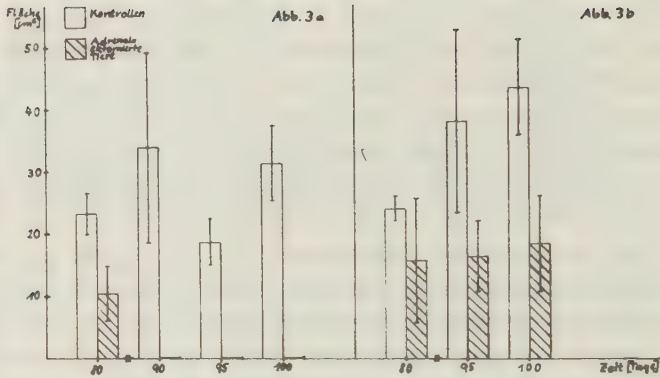


Abb. 3: Größe der Enzymdefektbezirke der Nucleosid-5'-Triphosphatasen in Abhängigkeit von der Applikationszeit des Diäthylnitrosamin bei adrenaletomierten Ratten und Kontrolltieren.
 a) männliche Tiere
 b) weibliche Tiere

D i s k u s s i o n

Wirkungsweise des DÄNA

Der Wirkungsmechanismus des DÄNA und der übrigen alkylierend wirkenden Nitrosamine wurde während der letzten Jahre durch verschiedene Arbeitsgruppen weitgehend aufgeklärt (MAGEE und BARNES 1956, BROUWERS und EMMELOT 1960, BROOKES und LAWLEY 1961, LEE 1966, DRUCKREY e.a. 1967, BALLWEG e.a. 1968, KRÖGER e.a. 1968, SWANN und MAGEE 1968, CRADDOCK 1969, BADER e.a. 1971, KRÜGER 1972, LAWLEY 1972). Da die toxische Natur der durch DÄNA verursachten Enzymdefektbezirke der Nucleosid-5'-Triphosphatasen unwahrscheinlich ist, ergibt sich als Alternative ein durch Änderung an der DNS bedingter Ausfall der Enzymproteinsynthese (SCHAUER und KUNZE 1968).

Die Untersuchungen sprechen dafür, daß nicht die Nitrosamine selbst, sondern ein Abbauprodukt, das durch Einwirkung einer mikrosomalen N-Dealkylase am α -C-Atom entsteht, cancerogen wirkt. Die abgespaltene Alkylgruppe lagert sich an den Nucleinsäuren, besonders am N-7-Atom des Guanin, und in geringerem Ausmaß an Proteinen an. Alkylierte Basen in der DNS führen zu Variationen in der Basenkomposition der RNS, die ihrerseits auch alkyliert werden kann. Die Folge ist die Bildung veränderter Proteine, oder, falls ein "Unsinnscodex" (KARLSON 1966) in der Nucleinsäurekette entstanden ist, der Verlust des betreffenden Gens, in unserem Fall also des Gens der Nucleosid-5'-Triphosphatasen.

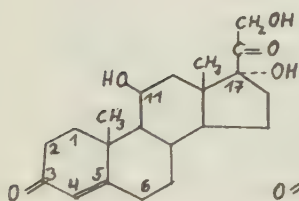
RABES e.a. 1970 unterteilen die Latenzperiode bis zum Auftreten DÄNA-induzierter Hepatome in 3 spezifische Perioden:

"Hemmung der Leberzellproliferation, Enzymverlust mit gleichzeitiger Induzierbarkeit der Proliferation durch partielle Hepatektomie, autonome Proliferation mit Verlust der Stimulierbarkeit durch partielle Hepatektomie."

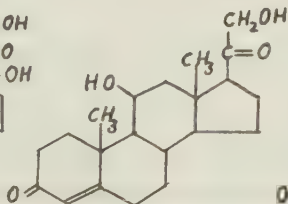
Es wäre zu untersuchen, ob die reversible Hemmung der Leberzellproliferation während der 1. Phase durch einen toxischen Effekt der relativ hohen DÄNA-Dosis (5 mg/kg KG /die) verursacht wird.

Überblick über die Wirkung der Glucocorticoide

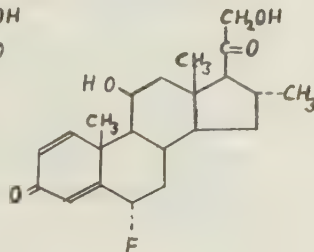
Das wichtigste Glucocorticoid ist beim Menschen das Cortisol, bei der Ratte das Corticosteron (GUILLEMIN e.a. 1959, PERON 1960, LEON 1966, LOWY e.a. 1969, MARC und MORSELLI 1969). Wir arbeiteten mit Fluocortolon (6 α -Fluor-16 α -methyl-1-dehydrocorticosteron, Ultralan^R), das sich durch eine zweite Doppelbindung im A-Ring, eine CH₃-Gruppe am C₁₆-Atom, durch Fehlen der C₁₇-OH-Gruppe sowie ein Fluoratom in Position 6 auszeichnet. (DOMENICO e.a. 1965, HOCHHEUSER und SOUVATZOGLOU 1970)



Cortisol



Corticosteron



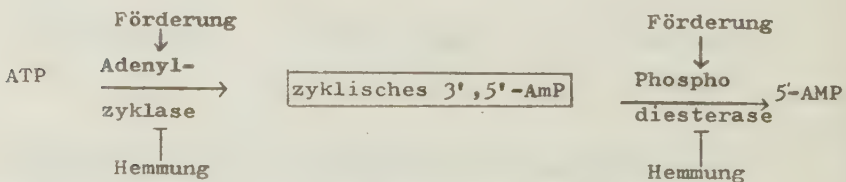
Fluocortolon

Die Bedeutung dieser strukturellen Unterschiede zeigt die Arbeit von LACASSAGNE e.a. (1966). Die Autoren konnten nachweisen, daß der synergistische Effekt einzelner Corticoide mit dem Cancerogen p-Dimethylaminoazobenzen ausschließlich auf der Gegenwart einer OH-Gruppe in 17-Position beruht. Wie KUMMER und OCHS (1968) fanden, steigert Dehydrierung an C₁ und C₃ die Haftfähigkeit

von Cortcoiden an Zellmembranen. Ferner beeinflussen die 11α -Hydroxylierung und die Fluorierung die Stoffwechseleffekte der Hormone wesentlich.

Die Hauptwirkung der Glucocorticoide besteht in einer Förderung der Gluconeogenese aus Eiweiß und infolgedessen einer Steigerung der Proteinabbaues und einer Hemmung der Proteinsynthese. Dieser katabole Effekt betrifft besonders die lymphatischen Organe und die quergestreifte Muskulatur. In der Leber dagegen fördern die Glucocorticoide die Synthese von Eiweiß, wobei insbesondere auch Enzyme synthetisiert werden, die für die Gluconeogenese erforderlich sind (TAUSK 1970).

Die unterschiedliche Wirkung einzelner Hormone auf verschiedene Organe sowie verschiedener Hormone auf ein und dasselbe Organ wird in letzter Zeit mit dem sogenannten "Relaismechanismus" (SIEGENTHALER 1970) des in der Zellmembran lokalisierten zyklischen AMP-Systems erklärt.



Somit könnte die Wirkung der Proteohormone in einer Wirkung auf die Zellmembran und ihre Porengröße bestehen, indem sie bestimmte Eigenschaften der Enzyme dieses Systems verändern. Es wird angenommen, daß die beiden Enzyme Adenylzyklase und Phosphodiesterase jeweils eine kata-

lytische Einheit besitzen. Auch wird die Existenz regulatorischer Einheiten vermutet, die jeweils Bindungsstellen für ein oder mehrere Hormone enthalten.

Ferner wurden im Kern der Leberzelle Komplexe von Cortisol und Histonen gefunden, die man als die "Repressoren" der Theorie von Jacob und Monod ansieht (WILLIAMS-ASHMAN 1965, GODWIN e.a. 1967, BEATO e.a. 1968, BEATO e.a. 1969, HANOUNE und FEIGELSON 1969, AMARAL e.a. 1969, OHTSUKA und KOIDE 1969, BEATO 1970). Eine Auflockerung der Genorte an den DNS-Strängen und eine Stimulierung der Aktivität der DNS-abhängigen RNS-Polymerase des Kernes (HECHTER und HALKERSON 1965, LUKÁCS und SEKERIS 1967, SEKERIS 1967, JACOB e.a. 1969) sowie eine enorme Zunahme der RNS in der Leberzelle ist die Folge, besonders der m-RNS. (FALLON und BYRNE 1967, SEKERIS 1967, AGRARWAL e.a. 1969, BEATO e.a. 1969, DREWS 1969, DREWS und WAGNER 1970) Nach den Untersuchungen von COX und MATHIAS (1969) erleichtert Cortisol die Kombination von m-RNS mit den Ribosomen und/oder Anheftung der Ribosomen an das rauhe endoplasmatische Retikulum durch Wirkung auf die Membran. Somit sind die Voraussetzungen für die beobachtete gesteigerte Protein- und Enzymsynthese in der Leberzelle durch Cortisol gegeben.

Mögliche Ursachen für die Hemmung der Zellcancerisierung
durch Fluocortolon

Enzyminduktion

Die Bildung bestimmter Enzyme kann dadurch stark angeregt werden, daß das Substrat oder verwandte Stoffe, ja sogar Inhibitoren, in die Zelle gelangen. Das induzierte Enzym ist mit dem normalerweise vorkommenden Enzymprotein identisch (KARLSON 1966). Die molekulare Basis für die Induktion mikrosomaler Enzyme in der Leber durch unterschiedlich aufgebaute Substanzen ist noch unbekannt. In Frage käme nach CONNEY (1967) eine Beeinflussung der Bildung spezifischer m-RNS, Entfernung von Repressoren aus dem biologischen Gleichgewicht, Angriff am endoplasmatischen Retikulum, Hemmung des Abbaues mikrosomaler Enzyme oder Unterbindung des Feed-back-Mechanismus bei der Synthese der Enzyme. Vom Enzyminduktor 3-Methyl-Cholanthren ist bekannt, daß er die Bildung einer kurzlebigen m-RNS steigert, die zur Synthese der Aminoazo-Farben-N-Demethylase nötig ist (CONNEY 1967). Die Induktion der drogenmetabolisierenden Enzyme durch cancerogene Kohlenwasserstoffe und Phenobarbital wird durch Aktinomycin D blockiert.

Zahlreiche, vor allem gluconeogenetisch wirkende Enzyme wie Glukose-6-Phosphatase, Fruktosediphosphatase, Threoninhydratase, Tyrosinketoglutarattransaminase, Tryptophanpyrrolase und sog. "drogenmetabolisierende" Enzyme werden durch Glucocorticoide in der Leber induziert. (BUSH 1962, HECHTER und HALKERSON 1965, PITOT 1966, CONNEY 1967, FALLON und BYRNE 1967, ADACHI e.a. 1968,

AGRARWAL e.a. 1969, HANOUNE und FEIGELSON 1969, HINES 1969, MERSMANN und SEGAL 1969). Andererseits ist bekannt, daß als Folge der chemischen Cancerisierung die Aktivität der G-6-Pase (SCHAUER und KUNZE 1968, SYDOW 1968, SYDOW und FEY 1969) und der Tryptophanpyrrolase (PITOT 1966) erniedrigt sind. KRÖGER e.a. (1968) wiesen nach, daß der normalerweise durch Cortisol induzierte Aktivitätsanstieg dieses Enzyms durch DÄNA verhindert wird.

CONNEY (1967) erwähnt, daß Phenobarbital und andere Enzyminduktoren die Bildung der TPNH-Oxydase in den Leberzellmikrosomen stimulieren. Dieses Enzymsystem greift in die Oxydation chemischer Substanzen ein. In der Hepatomzelle und in der proliferierenden Leberzelle während der Regeneration ist die Aktivität dieser TPNH-Oxydasen sehr niedrig. Deshalb erwägt CONNEY die Möglichkeit, daß sie an der Kontrolle des Wachstums beteiligt sind, und daß Mangel an diesen Enzymen oder Schädigung des endoplasmatischen Retikulums Bildung und Wachstum von Hepatomen fördern. Folglich könnte ihre Induktion eine Hemmung des Tumorstwachstums bewirken.

Wie CONNEY (1967) beobachtete, wird durch Behandlung von Ratten mit polycyclischen Kohlenwasserstoffen der mikrosomale Abbau von Aminoazofarbstoffen und 2-Acetyl-Aminofluoren zu nicht cancerogenen Metaboliten stimuliert. Den gleichen Mechanismus schildert er für die Hemmung der Cancerisierung mit 3,4-Benzpyren durch Verabreichen von Phenobarbital. Er weist darauf hin, daß die Administration von Cortison bei Ratten die Wirkungs-
dauer des Hexobarbital verkürzt und sein Abbau in der Leber beschleunigt wird, während umgekehrt Phenobarbital

die Hydroxylierung der Corticosteroide fördert. PITOT (1966) erzielte auch mit Applikation von carcinogenen Kohlenwasserstoffen eine ähnliche Enzyminduktion und schlägt daher - ebenso wie CONNEY - vor, für carcinogene Kohlenwasserstoffe, Steroide und andere enzym-induzierende Substanzen gleiche Wirkorte in der Zelle anzunehmen.

Welche Bedeutung haben diese Ergebnisse im Hinblick auf Cancerogene, die erst durch drogenmetabolisierende Enzyme aktiviert werden, wie man es z. B. vom DÄNA annimmt? MCLEAN und VERSCHUUREN (1969) konnten mit proteinfreier Diät Ratten gegen die letalen und toxischen Wirkungen des DMN und des CCl_4 schützen. Während der Enzyminduktor Phenobarbital die Tiere wieder sensibel gegen CCl_4 macht, gelingt es nicht, auf diese Weise auch den Schutz gegen DMN aufzuheben. Wenn man annimmt, daß die Nitrosamine ihre carcinogene Wirkung erst nach Umbau ausüben, ist das Enzymsystem der begrenzende Faktor der Cancerogenität der Substanz. Die zitierten Versuche beweisen dies aber nur für CCl_4 . Sehr wichtig in diesem Zusammenhang sind die Beobachtungen von KUNZ e.a. (1969): Phenobarbital verdoppelt die zum Tumortod führende DÄNA-Gesamtdosis und verlängert die Überlebenszeit der Tiere um 20 %. Die Zahl der Lebermalignome ist um 26 % reduziert. Die Ursache der verminderten carcinogenen Wirkung dürfte im gesteigerten Abbau von DÄNA infolge der Induktion mikrosomaler Metabolisierungsenzyme der Leber liegen. Eventuell erfolgt ein Abbau in mehreren Stufen, d. h. ein Teil der wirksamen Alkylradikale wird weiter abgebaut, ehe sie mit den Nucleinsäuren reagieren können.

Auch SWANN und MAGEE (1968) betonen, trotz der unbestrittenen Alkylierung von Nucleinsäuren und Proteinen durch

die Nitrosamine bestehe die Möglichkeit, daß sie ihre große cancerogene Potenz ganz oder teilweise anderen Reaktionen als der Alkylierung verdanken. Diese Einwände gegen die Alkylierungs-Hypothese gründen sie auf die relativ schwache carcinogene Wirkung vieler bekannter alkylierender Substanzen und die hohe carcinogene Potenz einiger zyklischer Nitrosamine, bei denen es schwierig sein dürfte, ein alkylierendes Zwischenprodukt durch Abbau zu erhalten, da dies eine Öffnung des Ringes erfordern würde. Außerdem ist die Äthylierung (7-Äthylguanin) von Leber-RNS bei Ratten, die mit DÄNA behandelt wurden, beträchtlich geringer als die entsprechende Umwandlung durch DMN (s.a. BALLWEG e.a. 1968). Dies könnte aber dafür sprechen, daß die Äthylierung wirksamer ist für die Induktion von Carcinomen als die Methylierung.

Ein weiterer Einwand gegen die Alkylierung als einzigen carcinogenen Mechanismus der alkylierenden Nitrosamine ist die von CRADDOCK (1969) beobachtete Unbeständigkeit methylierter DNS: 7-Methyl-Guanin verschwindet aus der DNS innerhalb von zwei Tagen nach der Applikation von DMN. Im Urin tritt eine erhöhte Konzentration von 7-m-Guanin auf, eher einer Ausscheidung der methylierten Base oder einem Abbau des Nucleinsäuremoleküls entsprechend als einer N-Demethylation. CRADDOCK berichtet weiter, daß in *Bacillus subtilis* ein Enzym nachgewiesen wurde, das die Destruktion der methylierten DNS katalysiert. Ferner würde in Säugetierzellen, die mit Senfgas behandelt worden seien, die geschädigte DNS repariert (s.a. ROBERTS 1968). Die Wahrscheinlichkeit ist groß, daß dasselbe Enzym verantwortlich ist für die Erkennung unterschiedlicher Schäden der DNS. Die Folge eines solchen

"repair enzyme's" wäre: Unterschiede in der Zellreaktion auf toxische und carcinogene Chemikalien könnten auf Unterschieden in ihrer Fähigkeit beruhen, geschädigte DNS zu ersetzen. Es bestünde also auch die Möglichkeit, daß die Glucocorticoide die Bildung eines "repair enzyme" induzieren.

Wirkung auf die Mitose

Die Generationszeit, d.h. die Lebensdauer einer Zelle von Teilung zu Teilung, umfaßt vier Phasen: G_1 -Phase, während der die Synthese von RNS und Protein stattfindet, S-Phase = DNS-Synthesezeit, G_2 -Phase = prämitotische Ruhephase und Mitose. Unterschiedliche Dauer der G_1 -Phase ist verantwortlich für die verschiedene Lebensdauer der Zellen; S-, G_2 - und Mitosephase sind bei allen Lebewesen ungefähr gleich lang. Die Lebensdauer der Leberzelle bei der Ratte beträgt 150 Tage, die der Hautzelle 96 Stunden (ZOLLINGER 1968).

Die Glucocorticoide stimulieren in der Leberzelle einerseits die Synthese von RNS, Protein und Glykogen, andererseits hemmen sie die Synthese von DNS und somit die Mitose (BUSH e.a. 1962, WIENER e.a. 1968). Der Leber-DNS-Gehalt bei Corticoid-behandelten Ratten bleibt konstant, trotz des Abfalls der ^3H -Thymidin-Inkorporation auf etwa 10 %, woraus hervorgeht, daß der Effekt der Hormone in einer Suppression der DNS-Synthese besteht (GUZEK 1968, WIENER e.a. 1968, HENDERSON e.a. 1971). AMARAL e.a. (1970) nahmen als Parameter der Mitosehemmung das Verhältnis zwischen Zellen mit diploidem Chromosomensatz und solchen mit tetraploidem, die vor der Mitose stehen: Normalerweise

nimmt während des Wachstums in der Mäuseleber der Anteil diploider Zellen zugunsten tetraploider um 13 % ab. Bei Gabe von Glucocorticoiden beträgt diese Abnahme nur 4 %. Nach Absetzen der Hormone wird die Hemmung aufgehoben. HENNINGS und ELGJO (1971) fanden eine Reduktion der DNS-Synthese um 50 - 60 % durch Corticoide. Höhere Dosen verursachten eine länger dauernde Hemmung, steigerten aber nicht ihr Ausmaß. Da die Wirkung erst nach einigen Stunden festzustellen war, greift das Hormon wahrscheinlich in der späten G₁-Phase ein. Unter Cortisonwirkung verkleinert sich der durchschnittliche Kerndurchmesser von 7,1 auf 6,5 μ (WIENER e.a. 1968).

Einen konträren Effekt des DÄNA auf die Mitose schildert RAJWESKI (1967): Bereits am 20. Tag der Carcinogenese mit DÄNA ist der L.I. (³H-Thymidin-Labeling Index) um den Faktor 2,5 bis 3 gesteigert und bleibt auf diesem Niveau, bis zum 100. - 120. Tag. Zu dieser Zeit erscheinen basophile Zellgruppen, gefolgt von multiplen Microcarcinomata, und fast gleichzeitig steigt die Fraktion DNS-synthetisierender Zellen rapid an, wie der L.I. anzeigt. Die Proliferationsaktivität nicht parenchymaler Zellen bleibt unverändert während der DÄNA-Cancerisierung, wohingegen eine höhere Anzahl von Parenchym^mZellen in Mitose gefunden wird. Diese Zunahme an DNS-synthetisierenden Parenchymzellen nach einer anfänglichen Depression der DNS-Synthese könnte das Ergebnis einer Vermehrung der proliferativen Fraktion der Population sein, d. h. ein Wiedereintritt sog. G₀-Zellen in den Zellzyklus (s.a. BASERGA 1965), und/oder eine Verkürzung der Dauer der G₁-Phase im Gegensatz zu den übrigen Phasen des Zyklus, die unverändert bleiben, wie es beim Mamma-Carcinom der Maus nachgewiesen wurde.

Nach den Untersuchungen von RABES (1968) ist das DÄNA-Hepatom eine schnell proliferierende Geschwulst: ihre G_1 -Phase dauert 3,5, die Generationszeit 14 Stunden. Nach Hypophysektomie beträgt die Generationszeit 32 Stunden, die G_1 -Phase 16 und ist also um das 4,5fache verlängert.

Die Entdeckung der Chalone brachte einen weiteren Hinweis auf die Hemmung der Mitose durch Glucocorticoide (BULLOUGH 1965, BULLOUGH und LAWRENCE 1968, BARDOS e.a. 1968, MOHR e.a. 1968, RYTÖMAA und KIVINIEMI e.a. 1968, 1969, IVERSEN 1970). Die Chalone sind wachstumshemmende Proteine, die man zuerst in der Epidermis fand. Sie hemmen Mitose und DNS-Synthese. Ihre Wirkung scheint reversibel und gewebs- aber nicht speziesspezifisch zu sein. Einige Chalone benötigen offensichtlich Stresshormone als Kofaktoren.

BULLOUGH (1965) berichtet von Schwankungen in der Chalon-Aktivität in Zusammenhang mit mitotischen Tageszyklen der Zellen und tageszeitlichen Rhythmen in der G_1 -Phase. In Geweben, die normalerweise unfähig sind zur Mitose, bilden sich typische mitotische Tageszyklen während der Regeneration aus. Auch für Adrenalin und Corticosteroide sind tageszeitliche Schwankungen bekannt. Bei Anstieg der Adrenalinaktivität beobachtet man eine Verminderung der mitotischen Gewebsaktivität (Stress!).

Als Beweis für das Zusammenwirken von Chalonem und Nebennierenhormonen führt BULLOUGH (1965) an:

1. Die Wirkungen der Glucocorticoide fallen nicht auf in normaler Leber, wo die mitotische Aktivität vernachlässigt werden kann, aber in regenerierenden Leber....

2. Eine mitotische Depression in der regenerierenden Leber wird beobachtet während Stress oder nach Adrenalin-Injektion.
3. Adrenalektomie steigert die mitotische Aktivität in normaler und regenerierender Leber."

Auch Melanome und Chlorome bilden Chalone und reagieren auf ihre Gegenwart durch mitotische Hemmung (BULLOUGH und LAWRENE 1968, RYTÖMAA und KIVINIEMI 1968, 1969). Ihr gesteigertes Wachstum könnte bedeuten, daß entweder zuwenig Chalone synthetisiert werden oder, wie es beim epidermalen Vx2-Tumor und der Chloroleukämie der Fall ist, die gebildeten Chalone zu schnell ins Serum verloren gehen.

Wirkung auf die Lysosomen

Einen neuen Gesichtspunkt fanden mehrere Autoren, die feststellten, daß die Aktivität lysosomaler Enzyme die Zelle von einer Mitosehemmung befreien kann (ALLISON und PATON 1965). Die Lysosomen sind von einer Membran umhüllte Zellorganellen. Sie enthalten neben einigen anderen Enzymen Ribonuclease, Desoxyribonuclease, Proteasen und die für sie besonders kennzeichnende saure Phosphatase, also insgesamt Hydrolasen. Sie verleiben sich zytoplasmatische Bestandteile, sogar Mitochondrien und Vakuolen des endoplasmatischen Retikulums, ein und verdauen sie. Wenn sie ihre Enzyme in die Zelle freigeben, können sie zytolytisch wirken. (suicide capsules, TAUSK 1970), (WALLRAFF 1967).

Ruhende Zellen weisen zahlreiche Lysosomen in der Nähe des Zellkernes auf. Vor Beginn der Mitose nimmt die Zahl der Lysosomen ab, und ihre charakteristische Anordnung wird

aufgehoben. Auch in der nach partieller Hepatektomie proliferierenden Leberzelle ist die Lysosomenzahl reduziert. Mitosefördernde Substanzen schädigen vielfach die Lysosomenmembran, Mitosehemmer stabilisieren sie. (ALLISON 1969)

Es gilt nun zu untersuchen, ob und wie sowohl Corticosteroide als auch DÄNA an diesen Zellorganen wirken.

Corticosteroide führen zu einer Zunahme der Lysosomenzahl, indem sie die Lysosomenmembran stabilisieren und somit ihren Abbau verhindern (WIENER e.a. 1968). WEISSMANN und THOMAS (1964) wiesen eine antagonistische Wirkung dieser Hormone zu Vitamin A und UV-Strahlen nach, meßbar an der verminderten Freisetzung lysosomaler Enzyme. Auf demselben Effekt dürfte beispielsweise die therapeutische Wirkung der Nebennierenrindenhormone beim Endotoxinschock beruhen, bei dem die durch Platzen der Lysosomen freigesetzten Enzyme zur Autolyse der Zelle führen (SANDRITTER und LASCH 1966).

Als wesentlichen Wirkungsmechanismus erwägen WEISSMANN und THOMAS (1964) eine unspezifische Adsorption von Steroidhormonen an die "monolayer-water-interface" der Membran: Die Steroide ordnen sich an der Heptan-Wasser-Grenzschicht horizontal an und reduzieren wahrscheinlich auf diese Weise die durch Vitamin A und UV-Strahlen verursachte Lipidperoxidation.

DÄNA seinerseits hebt die peribiliäre Anordnung der Lysosomen in der Leberzelle auf und vermindert ihre Zahl, was einen Abbau der Organellen vermuten läßt. Beides zeigen elektronenmikroskopische Untersuchungen (BÖRNER und GÖSSNER 1968, s.a. HAYASHI und REUBNER). Die durch den
1972

Abbau der Lysosomen bewirkte Freisetzung hydrolytischer Enzyme könnte die teilweise Auflösung des endoplasmatischen Retikulums in einer frühen Phase der Cancerisierung miterklären. ALLISON und MALLUCI (1964) konnten während mehrerer Wochen nach der Applikation cancerogene Kohlenwasserstoffe in den Lysosomen nachweisen und fanden eine verminderte Membranstabilität (s.a. ABE e.a. 1972). Als Folge beobachteten ALLISON und PATON (1965) eine allmähliche Freisetzung lysosomaler Enzyme wie DNase und RNase. Sie beeinflussen den Kontrollmechanismus der Zellteilung, beeinträchtigen aber nicht die Teilungsfähigkeit der Zelle (s.o. unter Mitose). Die Versuchsergebnisse scheinen zu beweisen, daß die lysosomale DNase in den Kern eindringt und beide Stränge der Doppelhelix gleichzeitig bricht (ALLISON 1969). Auch alkylierende Cancerogene zeigen derartige Effekte, wahrscheinlich über denselben Mechanismus.

In der Hypothese einer Beteiligung der Lysosomen an der Carcinogenese liegt eventuell eine einfache Erklärung für die Cocarcinogenese, d. h. die Verstärkung des Effektes kleiner Dosen cancerogener Substanzen durch nachfolgende Einwirkung nicht verwandter Chemikalien (ALLISON und MALLUCI 1964). Für die Beteiligung der Lysosomen an der Cancerogenese spricht auch folgende Überlegung: Alkylierung der DNS bewirkt nur die Mutation eines oder weniger Basenpaare. Dieser Schaden wäre relativ einfach zu reparieren. Chromosomenschädigung durch lysosomale Enzyme würden schwerer ins Gewicht fallen.

Diese Resultate sind wesentlich im Hinblick auf Chromosomenfehler, die auftreten nach Schädigung der Zellen durch Röntgenstrahlen, UV-Licht, Virusinfektionen

und eine Vielzahl von Chemikalien. Solche Schäden könnten durch direkten physikalischen oder chemischen Angriff an der DNS oder durch enzymatische Einwirkungen infolge Lysosomenschädigung entstehen (ALLISON und PATON 1965, ALLISON 1969).

Die Experimente könnten auch die auffällige Häufigkeit von Leukämie und anderen malignen Erkrankungen bei Trägern chromosomaler Aberrationen und genetisch bedingter Stoffwechseldefekte sowie bei deren nächsten Angehörigen erklären helfen (DE GROUCHY 1966, PORTER e.a. 1969, ALLISON 1969). Als Beispiele dienen Down- und Bloom-Syndrom, Fanconi-Anämie und Ataxia teleangiectatica. Bestimmte Erbfaktoren in Zusammenhang mit chromosomalen Fehlern scheinen hier verknüpft mit einer hohen Rate maligner Erkrankungen. Körperzellen von Patienten mit diesen Syndromen, ebenso wie von heterozygoten Trägern, werden nach Exposition an SV40-Virus in viel höherem Maße maligne umgewandelt als solche gesunder Menschen. Da keine zwei Fälle mit derselben Chromosomenanomalie gefunden werden konnten, dürfte es sich um eine angeborene Neigung zu Chromosomenbrüchen handeln, eher in Form einer allgemeinen Instabilität als einer bestimmten Fehlbildung. Entsprechende Umweltfaktoren tragen dann zur malignen Transformation bei. Wahrscheinlich ist die Chromosomenbrüchigkeit die Folge eines noch unbekannten Merkmales dieser Krankheiten, wie z. B. metabolische Beeinträchtigung der Chromosomenstabilität oder eine abnorme Zunahme chromosomenschädigender lysosomaler Enzyme. Externe und genetische Faktoren könnten somit Chromosomenveränderungen über einen gemeinsamen Mechanismus hervorrufen wie Schädigung von Lysosomen und Freisetzung chromosomenbrechender Enzyme (DE GROUCHY 1966).

Abnorme Lysosomen mit durchlässigeren Membranen infolge einer Fehlkonstruktion der inneren Matrix und pathologisches Durchsickern von Enzymen wurden beim Chediak-Higashi-Syndrom gefunden (WHITE 1966). Das Krankheitsbild ist gekennzeichnet durch zahlreiche Mißbildungen, erhöhte Anfälligkeit für bakterielle und Virusinfektionen sowie frühen Tod der Träger, meist infolge eines malignen Lymphoms.

Auch DE DUVE (1968, 1972) (s.a. ALLISON 1969) weist auf die pathogenetisch bedeutsame Rolle der Lysosomen bei zahlreichen Krankheitsprozessen hin und macht das Übersehen dieses Zusammenhanges für das Scheitern von Therapieversuchen verantwortlich. Eine von ihm entwickelte "lysosomotrope" Trägersubstanz leitet das an sie gebundene therapeutische Agens ausschließlich an Zellen mit pinozytotischer Aktivität und dort auf die Lysosomen weiter. Inzwischen ist bekannt, daß leukämische oder andere maligne entartete Zellen eine hohe Pinozytose-Aktivität entwickeln. Erste Erprobung dieser Substanz an Leukämiepatienten habe erstaunlich positive Resultate erbracht. Ermöglicht werde dies durch eine einzigartige Aufnahmebereitschaft dieser Organellen für chemische Substanzen. Bestätigt werden diese Ergebnisse durch die Versuche von WINCKLER (1972), der eine sehr hohe Bindungskapazität der Lysosomen für kationische Substanzen fand.

Geschlechtsunterschiede

Die von vielen Untersuchern gefundenen Geschlechtsunterschiede bei der Cancerisierung, nämlich eine erheblich größere Anfälligkeit der Männchen sowie unterschiedliche Reaktionen auf Corticoid-Applikation, bestätigten sich in unseren Versuchen nicht (BERLINER und DOUGHERTY 1961, SIDRANSKY e.a. 1961, FIRMINGER und REUBER e.a. 1962, KODAMA 1962, HARTVEIT 1965, REUBER 1965, TAKEUCHI e.a. 1965, TAKEUCHI 1966, CONNEY 1967).

Die Differenzen dürften z. T. auf wesentliche Unterschiede bei der Cancerogen- und Hormondosierung und abweichende Versuchsanordnungen sowie auf die jeweils untersuchten Zeitabschnitte zurückzuführen sein. Unsere Dosierungen lagen erheblich unter denen anderer Autoren. Auch beschränkten wir die Versuche auf den 65. - 105. Tag nach Beginn der Cancerisierung. Es wäre denkbar, daß sich die zitierten Geschlechtsunterschiede erst zu einem späteren Zeitpunkt herausbilden. Dafür spricht auch die Beobachtung von CONNEY (1967) über den stimulierenden Effekt exogener Substanzen auf die Enzyminduktion bei männlichen und weiblichen Tieren in Abhängigkeit vom Alter.

Auch bei dem überraschenden Ergebnis einer Hemmung der Cancerisierung nach Adrenalektomie bei geringer Corticoids substitution, die aber wahrscheinlich über dem physiologischen Hormonspiegel liegende Werte erzielte, vor allem dem völligen Fehlen der Enzymdefektbezirke bei Männchen, könnte es sich um einen temporären Effekt handeln, der zu einem späteren Zeitpunkt ins Gegenteil umschlägt. Der wesentliche Faktor für die absolute Hemmung

bei den adrenaletomierten Männchen vom 90. - 100. Tag könnte der Wegfall der androgenen NNR-Hormone sein. In diesem Zusammenhang wäre der Einfluß der endogenen Sexualhormone zu prüfen. Zu einer weiteren Abklärung des Einflusses von Glucocorticoiden und Adrenaletomie auf die Cancerisierung der Rattenleber sind breiter angelegte Versuche über einen längeren Zeitraum erforderlich.

Ausblick:

Die verschiedenen Deutungsmöglichkeiten
der Versuchsergebnisse

Bei der Hemmung der experimentellen Cancerisierung der Rattenleber durch DÄNA infolge Applikation des Corticosteroidderivates Fluocortolon handelt es sich nicht um einen unspezifischen Effekt. Mit großer Wahrscheinlichkeit schwächt Fluocortolon die cancerogene Potenz des DÄNA aufgrund mehrerer verschiedener Reaktionsmechanismen, die sich aus einer Gegenüberstellung der Angriffspunkte beider Substanzen ergeben:

1. DÄNA schädigt erstens das genetische Material:
Direkt durch Äthylierung der DNS, indirekt durch Angriff an den Lysosomen. Es macht die Lysosomenmembran durchlässiger und setzt so hydrolytische Enzyme frei, die ihrerseits Chromosomenbrüche hervorrufen.
Zum zweiten verkürzt es die G_1 -Phase des Generationszyklus und erhöht die Mitoserate.
2. Genau an diesen Punkten wirken die Glucocorticoide gegensinnig. Die unmittelbare Beeinträchtigung des genetischen Materials könnte durch Enzyminduktion verhindert werden: Einmal durch die Induktion des enzymatischen Abbaus des Cancerogens, zum anderen durch Induktion eines "repair enzyme". Mittelbare Schäden durch hydrolytische Enzyme reduziert es durch Stabilisierung der Lysosomenmembran. Auch die Mitoserate wird durch Glucocorticoide herabgesetzt, vor allem aufgrund einer Verlängerung der G_1 -Phase. Bei diesem Prozeß wirken wahrscheinlich die Chalone mit.

Z u s a m m e n f a s s u n g

220 Wistarratten wurde an 6 Tagen/Woche Diäthylnitrosamin (2 mg/kg KG/die) mit der Schlundsonde verabreicht. 139 Tiere erhielten vor 8⁰⁰ morgens zusätzlich ein Corticosteron-Derivat mit Glucocorticoid-Wirkung (Fluocortolon) in verschieden hoher Dosierung (0,25, 0,20 und 0,10 mg/kg KG/die) mit der Schlundsonde. 56 Tiere wurden adrenalectomiert und bekamen außer dem Cancerogen zur Substitution 2 - 3mal wöchentlich 0,03 bzw. 0,02 mg Fluocortolon.

Nach Tötung der Tiere wurden in 5 μ -dicken Kryostatserienschnitten der Leber die Nucleosid-5'-Triphosphatasen enzymhistochemisch nachgewiesen. Nach dem 70. Tag fanden sich regelmäßig herdförmige praeneoplastische Ausfallbezirke dieser Enzyme. Als Größenmaß wurde jeweils der bei einem Versuchstier aus Serienschnitt-Rekonstruktion ermittelte größte Enzymdefektbezirk planimetrisch bestimmt.

Bei allen Versuchsgruppen außer den männlichen adrenalectomierten Tieren konnte eine Flächenzunahme der Enzymausfallsbezirke mit zunehmender Versuchszeit festgestellt werden. Unter Einwirkung von Fluocortolon wurde die Entwicklung der Defektbezirke bei männlichen und weiblichen Tieren verlangsamt: Am 100. Tag nach Versuchsbeginn z. B. waren die Defektbezirke männlicher Ratten bei einer Dosis von 0,25 mg um das 2,6fache, weiblicher Ratten mit der Dosierung von 0,1 mg um das 3,2fache kleiner als bei den entsprechenden Kontrolltieren.

Die Ergebnisse werden im Hinblick auf die enzyminduzierende, antimitotische und lysosomenstabilisierende Wirkung der Glucocorticoide diskutiert.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. ABE, H., N. ALLEN, N.R. CLENDENON und J.A. SWENEERG:
Effects of Vitamin A and X-Irradiation to Lysosomal
Hydrolases in Nitrosamine-Induced Nervous System Tu-
mors of Rats.
Histochem. and Cytochem., Kyoto 1972, 347
2. ADACHI, K., S. KONDO und F. HU: Suppression of Growth
of Mouse Melanoma by Cortisone.
Nature, 220, 132 (1968)
3. ADAMSON, R.H. und J.R. FOUTS: The Metabolism of Drugs
by Hepatic Tumors.
Canc. Res. 21, 667 (1961)
4. AGARWAL, M.K., J. HANOUNE, F.L. YU, I.B. WEINSTEIN
und P. FEIGELSON: Studies on the Effect of Cortisone
on Rat Liver Transfer RNA.
Biochemistry, 8, 12 (1969)
5. ALLISON, A.C. und L. MALLUCI: Uptake of Hydrocarbon
Carcinogens by Lysosomes.
Nature, 203, 1024 (1964)
6. ALLISON, A.C. und G.R. PATON: Chromosome Damage in
Human Diploid Cells Following Activation of Lysoso-
mal Enzymes.
Nature, 207, 1170 (1965)
7. ALLISON, A.C.: Lysosomes and Cancer.
Frontiers of Biology, Vol. 14.B, Lysosomes in Bio-
logy and Pathology, North-Holland Res. Monography
Amsterdam-London 1969

8. AMARAL, L., L.G. MORIBER und M. HIMES: The Effect of Cortisone on the Volume and Total Protein Content of Mouse Liver Nuclei.
J. of Cell Biol. 42, 835 (1969)
9. AMARAL, L. und S. WERTHAMER: The Inhibitory Effect of Cortisone on the Synthesis of Mouse Liver DNA.
Life Science 9, 1261 (1970)
10. ANTOPOL, W., S. GLAUBACH und S. GRAFF: Retardation of Growth of Implants of CA 755 in Cortisone-Injected Mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 86, 364 (1954)
11. BADER, G., D. STILLER und K. ULLRICH: Elektronenmikroskopische Veränderungen der toxisch geschädigten und proliferierenden Leberzelle bei chronischer DÄNA-Gabe.
Arch. Geschwulstforsch. 37, 327 (1971)
12. BAGSHAW, K.D.: Tumour Growth and Anti-Mitotic Action. The Role of Spontaneous Cell Losses.
Brit. J. Canc. 22, 698 (1968)
13. BALLARD, P.L. und G.M. TOMKINS: Glucocorticoid-Induced Alteration of the Surface Membrane of Cultured Hepatoma Cells.
J. Cell Biol. 47, 222 (1970)
14. BALLWEG, H., F.W. KRÜGER und K. ARNSTADT: Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus cancerogener Nitrosamine.
Akt. Probl. aus dem Gebiet der Cancerol. II, Lettré, H und G. Waynn, Springer Verlag, Eerlin Heidelberg New York, 1968

15. BANNASCH, P.: The Cytoplasm of Hepatocytes During Carcinogenesis.
Rec. Res. Canc. Res. (1968)
16. BARDOS, T.J., H.L. GORDON, Z.F. CHIELEWICZ, R.L. KUTZ und M.V. NADKARNI: A Systematic Investigation of the Presence of Growth-Inhibitory Substances in Animal Tissues.
Canc. Res. 28, 1620 (1968)
17. BASERGA, R.: The Relationship of the Cell Cycle to Tumor Growth and Control of Cell Division: A Review.
Canc. Res. 25, 581 (1965)
18. BEATO, M., J. HOMOKI, I. LUKÁCS und C.E. SEKERIS: Increased Template Activity for RNA Synthesis of Rat Liver Nuclei Incubated with Cortisol in vitro.
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chemie 349, 1099 (1968)
19. BEATO, M., J. HOMOKI und C.E. SEKERIS: On the Mechanism of the Hormone Action. XII: Uptake of 1,2-³H-Cortisol by Isolated Rat Liver Nuclei.
Exp. Cell Res. 55, 107 (1969)
20. BEATO, M.: Cortisol
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chemie 351, 781 (1970)
21. BERLINER, D.L. und T.F. DOUGHERTY: Hepatic and Extra-hepatic Regulation of Corticosteroids.
Pharmac. Rev. 13, 329 (1961)
22. BLOOM, H.J.G., C.E. DUKES und B.C.V. MITCHLEY: Hormone-Dependent Tumours of the Kidney.
Brit. J. Canc. 17, 611 (1963)

23. BÖRNER, P. und W. GÖSSNER: Enzymhistochemische Untersuchungen der Adenosin-Triphosphatase, der alkalischen und sauren Phosphatase sowie der Succinyldehydrogenase im Leberparenchym der Ratte während der Einwirkung des Cancerogens Diäthylnitrosamin.
Z. Naturforsch. 23 b, 1085 (1968)
24. BREUER, H., W. BURGMANN und A. LUCHMANN: Klinisch experimentelle Untersuchungen mit 16-Methylcorticosteron-Derivaten.
Arzneimittelforsch. 15, 46 (1965)
25. BRIÈRE, N. und R. DAOUST: Histochemical Studies on Rat Liver Proteins During 4-Dimethylaminobenzene Carcinogenesis.
Canc. Res. 30, 1370 (1970)
26. BROOKES, P. und P.D. LAWLEY: The Reaction of Mono- and Difunctional Alkylating Agents with Nucleic Acids.
Biochem. J. 80, 496 (1961)
27. BROUWERS, J.A.J. und P. EMMELOT: Microsomal N-Demethylation and the Effect of the Hepatic Carcinogen Dimethylnitrosamine on Amino Acid Incorporation into the Proteins of Rat Livers and Hepatomas.
Exp. Cell Res. 19, 467 (1960)
28. BRUNE, H., S. HENNING und D. SCHMÄHL: Der Einfluß von Glucocorticoiden auf das Wachstum und die chemotherapeutische Beeinflussbarkeit autochthoner Benzpyrensarcome bei Mäusen.
Z. Krebsforsch. 72, 213 (1969)
29. BULLOUGH, W.S.: Mitotic and Functional Homeostasis. A Speculativ Review.
Canc. Res. 25, 1683 (1965)

30. BULLOUGH, W.S. und E.B. LAURENCE: Epidermal Chalone and Mitotic Control of the Vx2 Epidermal Tumour, *Nature* 220, 134 (1968)
31. BULLOUGH, W.S. und E.B. LAURENCE: Melanocyte Chalone and Mitotic Control in Melanoma. *Nature* 220, 137 (1968)
32. BUSH, J.E.: Chemical and Biological Factors in the Activity of Adrenocortical Steroids. *Pharmac. Rev.* 14, 317 (1962)
33. CONNEY, A.H.: Pharmacological Implications of Microsomal Enzyme Induction. *Pharmac. Rev.* 19, 3 (1967)
34. COX, R.F. und A.P. MATHIAS: Cytoplasmic Effects of Cortisol in Liver. *Biochem. J.* 115, 777 (1969)
35. CRADDOCK, V.M.: Stability of DNA Methylated in the Intact Animal by Administration of Dimethylnitrosamine. *Biochem. J.* 111, 497 (1969)
36. DOMENICO, A., H. GIBIAN, U. KERB, K. KIESLICH, M. KRAMER, F. NEUMANN und G. RASPE: Chemie und Pharmakologie eines neuen entzündungshemmenden Corticosterons, des 6 α -Fluor-16 α -methyl-1,4-pregnadien-11 β ,21-diol-3,20-dion (Fluocortolon) und seines Capronates. *Arzneimittelforsch.* 15, 46 (1965)
37. DREWS, J.: The Effect of Prednisolone Injected in vivo on RNA Synthesis in Rat Thymus Cells. *Europ. J. Biochem.* 7, 200 (1969)

38. DREWS, J. und L. WAGNER: The Effect of Prednisolone Injected in vivo on RNA-Polymerase Activities in Isolated Rat Thymus Nuclei.
Europ. J. Biochem. 12, 231 (1970)
39. DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN, S. IVANCOVIC und D. SCHMÄHL: Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitrosoverbindungen an BD-Ratten.
Z. Krebsforsch. 69, 103 (1967)
40. DE DUVE, CH.: Lysosomes as Targets for Drugs,
P.N. Campbell, ed.: Interaction of Drugs and Subcellular Components in Animal Cells. London, Churchill P. 1968, pp155
41. DE DUVE, CH.: Lysosomes and Peroxisomes.
Histochem. and Cytochem., Kyoto 1972, p. 23
42. DE DUVE, CH.: Zit. n. Enzymforschung auf neuen Wegen.
Selecta 13, 1236 (1973)
Bei Abschluß der Arbeit lag noch keine neue Veröffentlichung des Autors zu diesem Thema vor.
43. FALLON, H.J. und W.L. EYRNE: Depression of Enzyme Activity by Cortisone: An Effect on Serine Metabolism.
Endocrin. 80, 847 (1967)
44. FARBER, E.: Biochemistry of Carcinogenesis.
Canc. Res. 28, 1859 (1968)
45. FIRMINGER, H.I. und M.D. REUBER: Influence of Adrenocortical, Androgenic, and Anabolic Hormones on the Development of Carcinoma and Cirrhosis of the Liver in AXC Rats Fed N-2-Fluorenyldeacetamide.
J. Nat. Canc. Inst. 27, 559 (1961)

46. FRIEDRICH-FREKSA, H., W. GÖSSNER und P BÖRNER: Histochemische Untersuchungen der Cancerogenese in der Rattenleber nach Dauergaben von Diäthylnitrosamin.
Z. Krebsforsch. 72, 226 (1969)
47. FRIEDRICH-FREKSA, H., G. PAPADOPULU und W. GÖSSNER: Histochemische Untersuchungen der Cancerogenese in der Rattenleber nach zeitlich begrenzter Verabfolgung von Diäthylnitrosamin.
Z. Krebsforsch. 72, 240 (1969)
48. FORGET, A. und R. DAOUST: Histochemical Study on Rat Liver Glycogen During DAB Carcinogenesis.
Int. J. Canc. 5, 404 (1970)
49. FURTH, J.: Influence of Host Factors on the Growth of Neoplastic Cells.
Canc. Res. 23, 21 (1968)
50. GODWIN, E.L.R., K.R. REES und J.S. VARCOE: Nuclear RNA Synthesis in Rat Liver During the Early Stages of Chemical Carcinogenesis.
Brit. J. Canc. 21, 166 (1967)
51. GÖSSNER, W. und H. FRIEDRICH-FREKSA: Histochemische Untersuchungen über die Glucose-6-Phosphatase in der Rattenleber während der Cancerisierung durch Nitrosamine.
Z. Naturforsch. 19 b, 862 (1964)
52. GROUCHY, J. DE: Genetic Diseases, Chromosome Rearrangements, and Malignancy.
Ann. Internal. Med. 65, 603 (1966)

53. GUILLEMIN, R., W.E. DEAR und R.A. LIEBELT: Nychthemeral Variations in Plasma Free Corticosteroid Levels of the Rat.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101, 394 (1959)
54. GUZEK, J.W.: Effect of Corticotropin and Cortisone on the Incorporation of ^3H -Thymidine into the DNA of the Regenerating Liver in the White Rat.
Act. Endocrin. 59, 10 (1968)
55. HADJIOLOV, D. und A. DIKOW: Die Glucose-6-Phosphatase und Aldolase in primären Diäthylnitrosamin-induzierten Lebertumoren.
Z. Krebsforsch. 74, 48 (1970)
56. HAYASHI, M. und M.D. REUBER: Cytochemical Changes of Acid Hydrolases Activities in Hyperplastic and Neoplastic Lesions of the Liver in Rats given N-2-Fluorenyldiacetamide.
Histochem. and Cytochem., Kyoto 1972, (411)
57. HANOUNE, J. und P. FEIGELSON: The Absence of Cortisone Effect on the Synthesis of Specific Histones and Ribosomal Protein Subunits in Liver.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 34, 215 (1969)
58. HARTVEIT, F.: The Dual Effect of Cortisone on the Growth of Ehrlich's Ascites Carcinoma.
Brit. J. Canc. 19, 594 (1965)
59. HECHTER, O. und I.D.K. HALKESON: Effects of Steroid Hormones on Gene Regulation and Cell Metabolism.
Ann. Rev. Physiol. 27, 133 (1965)

60. HENDERSON, I.C., R.E. FISCHER und J.N. LOEB: Suppression of Liver DNA Synthesis by Cortisone.
Endocrin. 88, 6 (1971)
61. HENNINGS, H. und K. ELGJO: Hydrocortisone: Inhibition of DNA Synthesis and Mitotic Rate after Local Application to Mouse Epidermis.
Virch. Arch. Abt. B Zellpath. 8, 42 (1971)
62. HINES, W.J.W.: Effect of two Synthetic Steroids on the Ultrastructure of the Liver of Rattus Norvegicus L.
J. Pharmacy and Pharmacol. 21, 509 (1969)
63. HOCHHEUSER, W. und A. SOUVATZOGLU: Kortikoid-Therapie mit Fluocortolon.
Münch. med. Wschr. 19, 892 (1970)
64. IVERSEN, O.H.: Some Theoretical Considerations on Chalcones and the Treatment of Cancer: A Review.
Canc. Res. 30, 1481 (1970)
65. JACOB, F. und J. MONOD: Genetic Regulatory Mechanisms in the Synthesis of Proteins.
J. Mol. Biol. 3, 318 (1961)
66. JACOB, S.T., E.M. SAJDEL und H.N. MUNRO: Regulation of Nuclear RNA Metabolism by Hydrocortisone.
Europ. J. Biochem. 7, 449 (1969)
67. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1966
68. KATO, R. und A. TAKAHASHI: Decreased Hydroxylation of Steroid Hormones by Liver Microsomes from Rats Bearing Walker Carcinoma. 256.
Canc. Res. 30, 2346 (1970)

69. KIZER, D.E. und J.A. CLOUSE: Effects of Hepatocarcinogens on the Synthesis and Content of Rat Liver Nuclear RNA.
Canc. Res. 28, 502 (1968)
70. KIZER, D.E., COX, B., B.A. HOWELL und B.C. SHIRLEY: Effects of Hepatocarcinogens on Hepatocyte DNA Synthesis and Cortisone Induction of Tryptophan Oxygenase.
Canc. Res. 29, 2039 (1969)
71. KNECHT, M.: Untersuchungen über eine mikrosomale N-De-methylase in verschiedenen Organen der Ratte in vitro.
Z. Naturforsch. 21, 799 (1966)
72. KODAMA, M.: Effect of Hydrocortisone on Ehrlich Ascites Tumor.
Canc. Res. 22, 1212 (1962)
73. KRÖGER, H., P. KAHLE und H. KESSEL: In-vitro-Methylierung von Rattenleber-RNA unter Einfluß von Diäthylnitrosamin.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chemie 349, 1725 (1968)
74. KRÜGER, F.W.: New Aspects in Metabolism of Carcinogenic Nitrosamines.
Topics in Chem. Carc., University Park Press, Baltimore London-Tokyo 1972
75. KUMMER, D. und H.D. OCHS: Cytostatischer Wirkungsmechanismus von Cortisol und verwandten Steroiden.
Z. ges. exp. Med. 147, 291 (1968)
76. KUNZ, W., G. SCHAUDE und C. THOMAS: Die Beeinflussung der Nitrosamincarcinogenese durch Phenobarbital und Halogenkohlenwasserstoffe.
Z. Krebsforsch. 72, 291 (1969)

77. KUNZE, E., A. SCHAUER und M.A. AZAMI: Präcancerose Enzymdefekte der Rattenleber durch Dibutylnitrosamin und 1,2-Dimethylhydrazin.
Naturwiss. 57, 199 (1970)
78. LACASSAGNE, A., M.F. JAYLE, L. HURST und J.R. PASQUA-
LINI: Influence de différents corticostéroïdes sur la
cancerisation du foie du Rat par le p-diméthylamino-
azobenzene (DAB).
C.R. Acad. Sci. Paris 262, 2117 (1966)
79. LANG, N. und C.E. SEKERIS: Stimulation of RNA-Polyme-
rase Activity in Rat Liver by Cortisol.
Life Sci 3, 391 (1964)
80. LANG, N., P. HERRLICH und C.E. SEKERIS: On the Mechanism
of Hormone Action VII: Induction by Cortisol of a m-RNA
Coding for Tyrosine- α -ketoglutarate Transaminase in an
in vitro System.
Acta Endocrin. 57, 33 (1968)
81. LAWLEY, P.D.: The Action of Alkylating Mutagens and Car-
cinogens on Nucleic Acids: N-Methyl-N-nitroso Compounds
as Methylating Agents,
Topics in Chemical Carc., University Park Press, Balti-
more London Tokyo 1972
82. LEE, K.Y. und W. LIJINSKY: Alkylation of Rat Liver RNA
by Cyclic N-Nitrosamines in Vivo.
J. Nat. Canc. Inst. 37, 401 (1966)
83. LEON, H.A. : Early Effects of Corticosterone on Amino
Acid Incorporation by Rat Liver Systems Subsequent to
its in vivo Injection.
Endocrin. 78, 481 (1966)

84. LIEBELT, A.G. und R.A. LIEBELT: Influence of Gonadal Hormones and Cortisone on Spontaneous and Methylcholanthrene-Induced Leukemia in Inbred Mice.
Canc. Res. 22, 1180 (1962)
85. LITWACK, G. und R. BASERGA: Determination of Cellular and Subcellular Distribution of Tritiated Cortisol Derivatives in Rat Liver by Autoradiography.
Endocrin. 80, 774 (1967)
86. LOWY, J., T. ALBEPART und J.R. PASQUALINI: H³-Cortisone Metabolism in the Rat.
Acta Endocrin. 61, 483 (1969)
87. LUKÁCS, J. und C.E. SEKERIS: On the Mechanism of Hormone Action IX: Stimulation of RNA Polymerase Activity of Rat Liver Nuclei by Cortisol in vitro.
Biochim. Biophys. Acta (Amsterdam) 134, 85 (1967)
88. MAC GREGOR, R.R. und H.R. MAHLER: Subfractionation and Polyacrylamid Gel Analysis of Rat Liver RNA from Normal and Glucocorticoid Treated Rats.
Biochem. 8, 3036 (1969)
89. MAGEE, P.N. und J.M. BARNES: The Production of Malignant Primary Hepatic Tumours in the Rat by Feeding Dimethylnitrosamine.
Brit. J. Canc. 10, 114 (1956)
90. MAGEE, P.N. und K.X. LEE: Alkylation of Ribonucleic Acid of Rat Liver by Dimethylnitrosamine and N-butylmethyl, nitrosamine in vivo.
Biochem. J. 91, 35 (1964)

91. MARC, V. und P. L. MORSELLI: Metabolism of Exogenous Cortisol in the Rat in Various Experimental Conditions. *J. Pharmacy and Pharmacol.* 21, 12 (1969)
92. MCLEAN, A.M.E. und H.G. VERSCHUUREN: Effects of Diet and Microsomal Enzyme Induction on the Toxicity of Dimethylnitrosamine. *Brit. J. Exp. Path.* 50, 22 (1969)
93. MEIERS, H.G., W. BEIEN, T. DIETERICH und W. STAIB: Untersuchungen zur gluconeogenetischen Wirkung von Cortisol. *Acta Endocrin.* 60, 4 (1969)
94. MERSMANN, H.J. und H.L. SEGAL: Glucocorticoid Control of the Liver Glycogene-Synthetase Activating System. *J. Biol. Chem.* 244, 1701 (1969)
95. MITTELMAN, A., R.H. HALL, D.S. YOHN und T.J. GRACE: The in vitro Soluble RNA Methylase Activity of SV 40-induced Hamster Tumours. *Canc. Res.* 27, 1409 (1967)
96. MIZUKAMI, T., S. KOZAKA und I. NISHIO: Experimental Investigations on the Influence of Hormones on so-called Hormone-Induced Tumors. *Arch. Geschwulstforsch.* 33, 217 (1969)
97. MOHR, U., R. SPEETZEN und H. WRBA: The Proliferative Activity of the Liver Damaged by Diethylnitrosamine after Partial Hepatektomie. *Naturwiss.* 54, 566 (1967)
98. MOHR, U., J. ALTHOFF, V. KINZEL, R. SÜSS und M. VOLM: Melanoma Regression Induced by "Chalone": A New Tumour Inhibiting Principle Acting in vivo. *Nature* 220, 138 (1968)

99. MOREY, K.S. und G. LITWACK: Isolation and Properties of Cortisol Metabolite Binding Proteins of Rat Liver Cytosol.
Biochem. 8, 4813 (1969)
100. MOULIN, M.-CH. und R. DAoust: Glucose-6-Phosphatase Activity in Rat Liver Parenchyma During Azo-Dye Carcinogenesis.
Int. J. Canc. 8, 81 (1971)
101. OHTSUKA, E. und S.S. KOIDE: In vitro Stimulation of RNA Synthesis in Isolated Rat Liver Nuclei by Glucocorticoids.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 35, 648 (1969)
102. PÉRON, F.: The Isolation and Identification of Some Adrenocorticosteroids Released by Rat Adrenal Tissue Incubated in vitro.
Endocrin. 66, 458 (1960)
103. PITOT, H.: Some Biochemical Aspects of Malignancy.
Ann. Rev. Biochem. 35, 335 (1966)
104. PORTER, I.H., W.F. BENEDICT, CH.D. BROWN und B. PAUL: Recent Advances in Molecular Pathology: A Review. Some Aspects of Chromosome Changes in Cancer.
Exp. Molec. Biol. 11, 340 (1969)
105. RABES, H.: Beeinflussung der Proliferationsaktivität normaler und maligner Gewebe durch Hypophysektomie.
Sec. Meet. Europ. Study Group Cell Prolif. 1968
106. RABES, H., R. HARTENSTEIN und P. SCHOLZE: Specific Stages of Cellular Response to Homeostatic Control During Diethylnitrosamine-Induced Liver Carcinogenesis.
Sep. Exp. 26, 1356 (1970)

107. RABES, H., R. HARTENSTEIN und P. SCHOLZE: Hemmung der Proliferationsaktivität partiell resezierter Leber durch Diäthylnitrosamin.
Z. Krebsforsch. 73, 239 (1970)
108. RAJEWSKY, M.F.: Changes in DNA Synthesis and Cell Proliferation During Hepatocarcinogenesis by Diethylnitrosamine.
Europ. J. Canc. 3, 335 (1967)
109. RAJEWSKY, M.F.: Zur RNA-Synthese im Verlauf der Lebercarcinogenese durch Diäthylnitrosamin.
Z. Krebsforsch. 70, 314 (1968)
110. REID, E.: Significant Biochemical Effects of Hepatocarcinogens in the Rat.
Canc. Res. 22, 398 (1962)
111. REUBER, M.D. und H.I. FIRMINER: Effect of Progesterone and Diethylstilbestrol on Hepatic Carcinogenesis and Cirrhosis in A X C Rats Fed N-2-Fluorenyldiacetamide.
J. Nat. Canc. Inst. 29, 933 (1962)
112. REUBER, M.D.: Role of the Adrenal Glands in the Development of Lesions of the Liver in Rats Ingesting N-2-Fluorenyldiacetamide.
J. Nat. Canc. Inst. 34, 587 (1965)
113. ROBERTS, J.: Repair of Alkylated DNA in Mammalian Cells
Nature 218, 907 (1968)
114. RYTÖMÄÄ, T. und K. KIVINIEMI: Control of Cell Production in Rat Chloroleukemia by Means of Granulocytic Chalone.
Nature 220, 136 (1968)

115. RYTÖMAA, T. und K. KIVINIEMI: Chloroma Regression Induced by Granulocytic Chalone.
Nature 222, 995 (1969)
116. SANDRITTER, W. und H.L. LASCH: Pathologic Aspects of Shock.
In Meth. Achievm. exp. Path.
S. Karger, Basel * New York, Vol. 2, 1966
117. SANDRITTER, W.: Histopathologie.
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart-New York 1968
118. SCHAUER, A. und A. FEICHTNER: Enzymhistochemische Untersuchungen über den Nucleosidphosphat- und Kohlenhydratstoffwechsel während der Cancerisierung der Rattenleber mit Diäthylnitrosamin durch dosierte orale Zufuhr des Cancerogens.
Klin. Wochenschr. 46, 23 (1968)
119. SCHAUER, A., T. VÖLLNAGEL und M. WILDANGER: Morphologische und histologische Untersuchungen bei der Cancerisierung der Darmschleimhaut der Ratte durch 1,2-Dimethylhydrazin.
Verh. Deutsche Ges. Pathol., 53. Tag., Mainz 1969
120. SCHERER, E. und M. HOFFMANN: Probable Clonal Genesis of Cellular Islands Induced in Rat Liver by Diethylnitrosamine.
Europ. J. Canc. 7, 369 (1971)
121. SCHUBERT, J.C.F. und H. RINNEBERG: Der histochemische Nachweis von ATP-spaltenden Enzymen bei pH 7,2 in menschlichen Knochenmarkaustriichen.
Blut VIII, 282 (1962)

122. SEKERIS, C.E.: Wirkung der Hormone auf den Zellkern.
18. Colloq. Ges. physiol. Chemie 1967, "Wirkungsmechanismus der Hormone".
123. SEKERIS, C.E., Y. HOMOKI und M. BEATO: Effects of Cortisol and Actinomycin D on RNA-Polymerase Activity of Rat Liver Nuclei: Importance of Sequence of Administration.
20. Colloq. Ges. physiol. Chemie 1969, "Inhib. Tools in Cell Res.
124. SIE, H.G., A. HABLANIAN und W.H. FISHMAN: Divergent Effects of Actinomycin D on Cortisol and on Glucose Stimulation of Glycogenesis in Mouse Liver.
Biochem. J. 102, 103 (1967)
125. SIDRANSKY, H., B.P. WAGNER und H.P. MORRIS: Sex Difference in Liver Tumorigenesis in Rats Ingesting N-2-Fluorenylacetamide.
J. Nat. Canc. Inst. 26, 151 (1961)
126. SIEGENTHALER, W.: Klinische Pathophysiologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1970
127. SPORN, M.B. und C.W. DINGMAN: Studies on Chromatin II. Effects of Carcinogens and Hormones on Rat Liver Chromatin.
Canc. Res. 26, 2488 (1966)
128. STACKHOUSE, H.L., C.J. CHETSANGA und C. H. TAN: The Effect of Cortisol on Genetic Transcription in Rat Liver Chromatin.
Biochim. Biophys. Acta(Amsterdam) 155, 159 (1968)

129. STITNIMANKARN, T. und K. THAKERNIGPOL: Enzyme Histochemical Study of Primary Hepatic Carcinoma in Thailand.
Cancer 25, 1064 (1969)
130. SÜSS, R. und H.R. MAURER: Reduced Binding of Carcinogenic Hydrocarbons to DNA of Mouse Skin During Inhibition of DNA Synthesis.
Nature 217, 752 (1968)
131. SWANN, P.F. und P.N. MAGEE: Nitrosamine-Induced Carcinogenesis.
Biochem. J. 110, 39 (1968)
132. SYDOW, G.: Untersuchungen an der Rattenleber über unspezifische und tumorspezifische Stoffwechselveränderungen nach Applikation von Diäthylnitrosamin.
Europ. J. Canc. 3, 503 (1968)
133. SYDOW, G. und F. FEY: Über die Glykogenese in der Rattenleber nach Einwirkung von Diäthylnitrosamin.
Acta Biol. med. germ. 23, 9 (1969)
134. TAKEUCHI, J., S. KANO und H. TAUCHI: Influences of Age and Sex on the Effect of Hydrocortisone upon Ehrlich Tumour and the Adrenal Gland.
Brit. J. Canc. 19, 353 (1965)
135. TAKEUCHI, J.: Effect of Chondroitin Sulphate on the Growth of Solid Ehrlich Ascites Tumour under the Influence of Hydrocortisone.
Brit. J. Canc. 20, 847 (1966)
136. TAUSK, M.: Pharmakologie der Hormone.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 1970

137. VESSELINOVITCH, S.D.: Difference in the Development of Liver Tumors in Mice Administered Dimethylnitrosamine. *Canc. Res.* 29, 1024 (1969)
138. WACHSTEIN, M. und E. MEISEL: The Histochemical Distribution of 5-Nucleotidase and Unspecific Alkaline Phosphatase in the Testicle of Various Species and in two Human Seminomas. *J. Histochem. Cytochem.* 2, 137 (1954)
139. WALLRAFF, J.: Leitfaden der Histologie des Menschen. Verlag Urban und Schwarzenberg, München - Berlin-Wien 1967
140. WEISSMANN, G. und L. THOMAS: The Effects of Corticosteroids upon Connectiv Tissue and Lysosomes. *Rec. Prog. Horm. Res.* 20, 215 (1964)
141. WEISSMANN, G.: The Effects of Steroids and Drugs on Lysosomes. *Frontiers of Biology*, Vol. 14 A, Lysosomes in Biol. and Pathol., North Holland Res. Monogr. Amsterdam - London 1969
142. WHITE, J.G.: The Chediak-Higashi Syndrome: A Possible Lysosomal Disease. *Blood*, 28, 143 (1969)
143. WIENER, J. A.D. LOUD, D.V. KIMBERG und D. SPIRO: A Quantitative Description of Cortisone-Induced Alterations in the Ultrastructure of Rat Liver Parenchyma Cells. *J. Cell Biol.* 27, 47 (1968)

144. WILHELM, R.C. und D.B. LUDBLUM: Coding Properties of 7-Methylguanine.
Science 153, 1403 (1966)
145. WILLIAMS-ASHMANN, H.G.: New Facets of the Biochemistry of Steroid Hormone Action.
Canc. Res. 25, 1096 (1965)
146. WINCKLER, J.: On the Heterogenity of the Lysosomal Matrix. Intravital Stainig of Lysosomes with Neutral Red
Histochem., Cytochem., Kyoto 1972, 337
147. WINKLER, K.: Lokale Wirkung des 6α -Fluor- 16α -methyl- Δ^1 -corticosterons (Fluocortolon) und seines Capronates.
Arzneimittelforsch. 15, 46 (1965)
148. ZOLLINGER, H.U.: Pathologische Anatomie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968, Band I

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. A. Schauer für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Ausführung, den Mitarbeitern des Instituts für Rat und Hilfe, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für das Bereitstellen finanzieller Mittel und der Schering AG für die kostenlose Überlassung des Hormonpräparates.

Lebenslauf

Am 9. September 1944 wurde ich, Barbara Britta Burkhard, geb. Ruckdäschel, in Köthen, Bez. Halle, als Tochter des Studenten Ingmar Ruckdäschel und seiner Ehefrau Hildgard geb. Braunsdorf geboren.

Nach der Heimkehr meines Vaters aus russischer Kriegsgefangenschaft 1950 lebten wir in Schönbrunn im Fichtelgebirge, wo ich die Volksschule besuchte. Mein Vater beendete sein Studium als Tiefbauingenieur und arbeitet seit 1954 am Straßen- und Wasserbauamt in Passau. Im Juli 1964 legte ich am Mädchenrealgymnasium Niedernburg in Passau, das ich seit 1955 besucht hatte, die Reifeprüfung ab.

Vom Wintersemester 1964/65 bis zum Wintersemester 1965/66 studierte ich an der Universität München Latein und Germanistik. Im Sommersemester 1966 begann ich ebenfalls an der Universität München das Studium der Medizin und bestand das Vorphysikum im Frühjahr 1967 und das Physikum im Herbst 1968.

Im Juli 1969 heiratete ich den Studienrat Wolfgang Burkhard.

Die ärztliche Prüfung bestand ich am 20. Dezember 1971 und erhielt am 18. April 1973 die Approbation als Arzt. Zur Zeit arbeite ich als Assistenzärztin in einer internistischen Fachpraxis in München.

